

Institut für Medizinische Mikrobiologie
und Hygiene

Abt.: Infektionsmedizin

Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (NAT/PCR)

Allgemeines zur Präanalytik (Probengewinnung, Lagerung, Transport)

- Sowohl für den molekularbiologischen Nachweis als auch für kulturelle Anlagen aus klinischem Untersuchungsmaterial sollte auf kurze Transport- und Lagerzeiten geachtet werden, so dass die Proben möglichst noch am Tag der Entnahme weiterverarbeitet werden können.
- Es gilt generell, dass ein Vorgehen, das den kulturellen Erregernachweis ermöglicht, auch den molekularbiologischen Nachweis ermöglicht.
- Speziesübergreifende PCR-Untersuchungen (Pan-bakterielle (16S-rDNA) und Pan-mykotische (z.B. 18S-rDNA) PCR-Untersuchungen) sind üblicherweise nur aus primär sterilen Materialien sinnvoll. Bei Mischinfektionen bzw. Mischbesiedlungen ist eine genaue Speziesdifferenzierung mittels PCR und anschließender DNA-Sequenzierung nicht möglich.
- Für PCR-Untersuchungen bitte natives Probenmaterial (kein Formalin-fixiertes oder Formalin-fixiertes Paraffin-eingebettetes („FFPE“, Paraffinschnitte) Material) einsenden. Durch die Formalinfixierung kann die Sensitivität der PCR-Untersuchung beeinträchtigt werden, wodurch falsch-negative Ergebnisse möglich sind. Bei Paraffinschnitten kann es neben der Formalinfixierung zu DNA-Verlusten bedingt durch die Entparaffinierung kommen. Des Weiteren sind durch die unsterile Vorbehandlung ebenfalls falsch-positive PCR-Ergebnisse möglich.
- Für PCR-Untersuchungen aus Blut ausschließlich EDTA Blut einsenden, da heparinhaltige Blutproben zu Inhibitionen der PCR führen können.
- Serumproben sind für PCR-Untersuchungen weniger geeignet als EDTA-Blutproben, da die Erregermenge im Serum abgereichert ist.
- Probenmaterial für PCR-Untersuchungen und für Kulturanlagen in ausreichender Menge und Güte gewinnen, da bei nicht ausreichender Probenmenge Einschränkungen in der Sensitivität gegeben sind.
- Mehrfachuntersuchungen aus einer Probe erfordern in der Regel ein größeres Probenvolumen.
- Proben für den Transport in ein bruchsicheres Transportgefäß überführen. Dazu dicht schließende, sterile Einmalprobengefäße (vorzugsweise Schraubverschluss) verwenden. Gewebe und Biopsien mit einer geringen Menge steriler Kochsalzlösung versetzen, um diese gegen Austrocknung zu schützen.
- In Abhängigkeit des Probenmaterials (sterile oder unsterile) soll dieses bei Raumtemperatur bzw. bei 4°C im Kühlschrank bis zum Versand lagern.
- Flüssiges Probenmaterial (z.B. Liquor oder Punktate) nicht bei -20°C lagern, da aus gefrorenen Flüssigproben keine zentrifugale Anreicherung von Erregern möglich ist.

Allgemeine Bemerkungen zur Befundinterpretation

- Ein negatives PCR-Ergebnis schließt eine Infektion bzw. eine Besiedlung mit dem entsprechenden Erreger mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit, allerdings nicht vollständig, aus.
- Ein positives PCR-Ergebnis ist nicht beweisend für das Vorliegen einer floriden Infektion bzw. einer andauernden Besiedlung, da die PCR-Untersuchung nicht zwischen vermehrungsfähigen und nicht mehr vermehrungsfähigen Organismen unterscheidet. Somit ist die PCR als Verlaufskontrolle einer Infektion bzw. als Kontrolle einer erfolgreichen Dekolonisierung nach Besiedlung nur bedingt, bzw. nicht geeignet.